

Gegenüberstellung der biologischen
und chemischen Methode der Bestimmung
der Serum-Oxytocinase-Aktivität im Serum

Peter Jäger

1961

Aus der II. Frauenklinik der Universität München
(Direktor: Prof. Dr. med R. Fikentscher)

Gegenüberstellung der biologischen und chemischen Methode
der Bestimmung der
Serum-Oxytocinase-Aktivität im Serum.

Inaugural - Dissertation
zur
Erlangung der Doktorwürde
in der gesamten Medizin
verfaßt und einer
Hohen Medizinischen Fakultät
der Ludwig-Maximilian-Universität
zu München

vorgelegt
von
Peter Jäger
aus
Ludwigshafen am Rhein
1961



Mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität München

Berichterstatter: Priv. Doz. Dr. K. Semm
Mitberichterstatter: Prof. Dr. Fikentscher
Dekan: Prof. Dr. Seitz

Tag der mündlichen Prüfung: 7. 11. 1961

Vorliegende Arbeit entstand auf Anregung von
Herrn Privatdozent Dr. med. K. Semm und wurde
im Laboratorium der II. Frauenklinik der Uni-
versität in München ausgeführt.

Für die immer freundliche Hilfe bei der Durch-
führung der Arbeit spreche ich Herrn Privat-
dozent Dr. Semm meinen aufrichtigen Dank aus.

Dem Direktor der II. Universitätsfrauenklinik,
Herrn Professor Dr. med. R. Fikentscher, bin
ich außerdem für die Überlassung eines Arbeits-
platzes zu großem Dank verpflichtet.

Inhaltsübersicht

	Seite
Einleitung	1
Fermente in der Gravidität	1
Serumoxytocinase	6
Eigene Untersuchungen zur Messung der Fermentaktivität:	8
a) Biologische Methode	8
b) Chemische Methode	19
Versuche zur Bestimmung eines evtl. Aktivitätsverlustes infolge Lagerung	24
Zusammenfassung	27
Literaturverzeichnis	28 a
Lebenslauf	30

Gegenüberstellung der biologischen und chemischen Methode zur Bestimmung der Serum-Oxytocinase-Aktivität im Serum.

Zunächst sei der Begriff eines Fermentes kurz umrissen und ein Überblick über die heutige Fermentforschung im Zusammenhang mit dem menschlichen, schwangeren Uterus gegeben.

Nach Willstätter⁵⁰ "ist das Leben nichts anderes als die geregelte Zusammenwirkung enzymatischer Prozesse". Vom physiologischen Standpunkt aus betrachtet, kommt der lebenden Substanz die Anpassungsfähigkeit an äußere Einflüsse jeglicher Art als Haupteigenschaft zu. R. Wagner nennt diese Fähigkeit Regler-Mechanismen.

Fermente sind chemische Stoffe, kommen nur in belebter Materie vor und müssen von den Organismen gebildet werden; sie bestimmen die Richtung und Geschwindigkeit chemischer Umsetzungen im Körper. Jedes Ferment besitzt einen spezifischen Angriffspunkt in den spaltenden und aufbauenden Umwandlungsprozessen und unterscheidet sich grundsätzlich in seiner Struktur, der Art seiner Wirkung und des Angreifens an dem Substrat (Wirkungs- und Substratspezifität). Die Fermente wirken am Ort ihrer Entstehung, anders ausgedrückt, sie lösen immer die Vorgänge aus, welche in ihrer Gegenwart ablaufen.

Nach genauerer chemischer Definition sind die Fermente zusammengesetzte Eiweißkörper, welche man wiederum in Fermente von Protein- und solche von Proteidcharakter einteilt. Entsprechend ihrer Funktion teilt man sie ein in Hydrolasen, die größere Molekülkomplexe durch Hydrolyse umsetzen, und in Desmolasen mit der Wirkung auf festere Bindungen, zum Beispiel C-C-Bindungen.

Man unterscheidet hinsichtlich des Fermentaubaues einen hochmolekularen Anteil, das Apoferment als Trägersubstanz, von einem niedermolekularen, dem Coferment als Wirksubstanz. Seit der erstmaligen Isolierung und Reindarstellung eines Fermentes, der Urease, im Jahre 1926 durch den Amerikaner Sumner, ist es bis heute gelungen, etwa 70 Enzyme zu gewinnen.

Es würde zu weit führen, an dieser Stelle alle Fermentsysteme aufzuzählen, die bis heute in der Schwangerschaft bekannt sind. Nur einige seien herausgegriffen: *Abderhalden*^{1,2} fand im mütterlichen Organismus spezifische Schutzfermente. Er erklärte ihre Schutzfunktion damit, daß durch die Verschleppung von Chorionzellen artfremdes Eiweiß in die mütterliche Blutbahn gelangt. Diese parenterale Dauerinfusion führt zum Auftreten von Proteinase, welche als Abwehrfermente wirken sollen. Der Nachweis dieser Abwehrfermente stellt die erste biologische Schwangerschaftsreaktion dar.

Neuerdings berichtet *Irmischer*²³ über Bestimmung der Leitfähigkeit abgebauter Aminosäuren aus Polypeptiden. Die Bestimmungsmethode beruht auf der chemischen Eigenschaft der Aminosäuren, die als Zwitterionen in positive und negative Ladungen zerfallen und in saurer Lösung Kationen, in alkalischer Lösung Anionen bilden. Schwangerenserum, dem Placentasubstrat zugesetzt war, wurde inkubiert und dessen elektrische Leitfähigkeit gemessen. Die Treffsicherheit dieser Methode, welche sich auf alle Monate der Gravidität erstreckte, war 95 %. Hierbei handelt es sich aber nicht um eine schwangerschaftsspezifische Reaktion.

Histaminase.

Die Histaminase inaktiviert Histamin irreversibel. *Werle* und *Effkemann*⁴⁶ fanden einen kontinuierlichen Histaminaseanstieg vom Beginn der Schwangerschaft an bis zum 7. Monat. Von da an bleibt der Serum-Histaminasespiegel bis zum Ende der Geburt konstant, um nach acht Tagen post partum wieder den Ausgangswert zu erreichen. Sie kamen auf Grund ihrer Untersuchungen zu dem Ergebnis, daß die Serum-Histaminase in der Schwangerschaft identisch sei mit der Histaminase, welche in den anderen Organen des menschlichen Körpers vorkomme und in jedem Fall eine Diaminoxidase sei. Die Erhöhung der Histaminase-Aktivität in der Gravidität ist spezifisch. Bei Leber- und Nierenaaffektionen, sowie bei Infekten ist der Histaminasegehalt im Serum gesenkt. Schwangere Pferde, Rinder,

Kaninchen, Ratten und Meerschweinchen zeigen in ihrem Serum keine erhöhte Histaminase-Aktivität.

Durch die Histaminase wird ein normaler Histaminspiegel während der Gravidität gewährleistet und eine abnorme Gefäßerweiterung verhindert.

Phosphatasen.

Die Phosphatasen sind die in der Gravidität am häufigsten untersuchten Enzyme (G o m o r i ¹⁷, J u n g und G. S t a r k ²⁴, v. V a l v e r d e - P i n e d o ³⁸). Sie finden sich reichlich in der Darmschleimhaut, in der Leber, Niere, Milchdrüse und im Knochen. In der Darmschleimhaut hat die Phosphatase die Aufgabe, die Glukose-Phosphorylierung zu katalysieren. In der Niere spaltet sie die organischen Phosphorsäureverbindungen.

A t k i n s o n und E n g l e ³ gelang der Nachweis einer Aktivitätssteigerung der Phosphatase im Myo- und Endometrium von Rhesusaffen, nach Zugabe von Östrogenen. Zusätzliche Progesteron-Behandlung verminderte die Phosphatase-Aktivität. O b e r ²⁶ kam zu gleichen Ergebnissen bei seinen Untersuchungen am Myometrium unter der Geburt. T h o m s e n ³⁵ stellte an einem zahlenmäßig größeren Material fest, daß die alkalische Phosphatase nur im Protoplasma des synzytialen Epithels vorkommt und bis zum 8. Schwangerschaftsmonat ständig an Aktivität zunimmt, um dann bis zum Geburtstermin wieder abzusinken.

Im Gegensatz zur alkalischen Phosphatase, deren Aktivität in der Placenta etwa gleichsinnig mit der Pregnandiolausscheidung verläuft, fällt die Aktivität der sauren Phosphatase in der Placenta schon nach einem Maximum im 3. Schwangerschaftsmonat ab.

Im Verlauf der Gravidität bleibt die Serumaktivität der alkalischen Phosphatase zunächst unverändert, um dann in den letzten drei Monaten auf die doppelte Höhe des Normalwertes anzusteigen (S o d a n s k y und Mitarbeiter ⁷). Die Diskussion über diesen Anstieg im letzten Drittel der Gravidität ist bis heute nicht verstummt. Es wird unter anderem auf die Demineralisation des mütterlichen Knochensystems infolge des hohen

Mineralbedarfs des Feten in der Spätschwangerschaft hingewiesen. J u n g und S t a r k ²⁴ erklären den Abfall der Serumphosphatase zum Zeitpunkt der Geburt mit dem Ausfall der Placenta als dem mutmaßlichen Fermentspender. Das weitere Absinken geht jedoch langsam vor sich. Andere Enzymquellen treten noch in Betracht, so zum Beispiel die äußerst fermentreiche laktierende Brustdrüse.

β -Glukuronidase.

P a s e t t o und E r m i g l i a ²⁸ berichten von einer schwangerschaftsbedingten Reaktion mit einem Aktivitätsanstieg auf das Doppelte des Normalwertes. Sie kommt reichlich im Endometrium vor. Mit zunehmender Zellproliferation kommt es unter Einwirkung der Glukuronidase zur hydrolytischen Spaltung von Steroid-Glukuroniden, welche dadurch entgiftet und ausscheidungsfähig gemacht werden. Parallel mit der Serumzunahme geht eine vermehrte Glukuronsäureausscheidung, die einen Tag post partum beendet ist.

Cholinesterase.

Sie wird ebenfalls durch die Schwangerschaft beeinflusst.

F a b i a n o ¹³ fand eine Herabsetzung der Fermentwirkung in der ungestörten Gravidität, bei Gestosen eine stärkere Verminderung der Enzymaktivität.

Nach R i m b a c h ²⁹ kann man die oben angeführten Fermentsysteme als "unspezifische Fermente mit schwangerschaftsbedingter Reaktion" bezeichnen.

Im Jahre 1953 gaben zwei Forschergruppen nach langwierigen und mühseligen Vorarbeiten gleichzeitig, aber unabhängig voneinander, die chemische Strukturformel des Oxytocins bekannt. Von diesem biogenen Protein war bis zu diesem Jahre nur wenig bekannt: leichte Lösungsfähigkeit in organischen Lösungsmitteln, amphotäres Verhalten, isoelektrischer Punkt. Seit der erstmaligen Synthese durch D u V i g n e a u d ⁴⁰⁻⁴² in Amerika und T y p p y ³⁷ in Österreich, wissen wir heute, daß es

sich um ein Polypeptid, genauer um die Verknüpfung von acht Aminosäuren, also um ein Oktapeptid handelt.

Die gleichen Autoren wiesen nach, daß die uterotrope Wirkung des Moleküls sehr streng an diese acht Aminosäuren und ihre Folge aufeinander gebunden ist. Auffallend ist, daß beim Austausch auch nur einer Aminosäure das Gesamtmolekül nach den einzelnen Testmethoden völlig verschiedene Wirkungsstufen aufweist (B e r d e , B o i s s o n n a s et al.⁸).

Im Organismus hat das Oxytocin eine extreme Kurzlebigkeit, die F i t z p a t r i c k¹⁶ am nichtgraviden Schaf untersuchte. Er kam zu dem Ergebnis, daß exogen zugeführtes Oxytocin eine Halbwertszeit von nur 55 Sekunden hatte. C a l d e y r o - B a r c i a und sein Arbeitskreis¹⁰ fand beim Menschen als Halbwertszeit 1,2 Minuten. Nach neueren Untersuchungen (B a r g m a n n⁴, H i l d und Z e t l e r¹⁸) wird Oxytocin nicht, wie bisher angenommen in der Hypophyse selbst, sondern wahrscheinlich in der grauen Substanz des Hypothalamus durch Neurosekretion gebildet, und zwar in den nuclei supraoptici et paraventriculares. Von diesen Strukturen wandert das Hormon den Neuronen entlang zur Neurohypophyse, von wo es in den Kreislauf übertritt. Die Neurohypophyse umfaßt die eminentia mediana des tuber cinereum, das Infundibulum und den Trichterstiel, sowie den Hinterlappen. In allen diesen Strukturen konnte Oxytocin nachgewiesen werden (v a n D y k e , A d a m s o n s , E n g e l¹²).

Ein weiterer Beweis dafür, daß Oxytocin im Hypothalamus entsteht und zur Hypophyse wandert, ist darin zu sehen, daß Hypothalamus-Extrakte ähnlich wie Hypophysen-Extrakte wirken. Nach Durchtrennung des Hypophysenstiemes sammelt sich das Neurosekret am zentralen Stumpf des tractus supraoptico-hypophyseus an, während der Gehalt der Hypophyse an oxytocisch wirksamer Substanz abnimmt.

Die Oxytocin-Freisetzung und die Uterusaktivität beeinflussen sich gegenseitig. Dieser unter dem Namen F e r g u s o n - H e f l e x¹⁵ bekannte Mechanismus läßt sich wie

folgt darstellen:

In den letzten zehn Wochen der Gravidität vergrößert sich der Uterus langsamer als der Foetus. Dies hat eine Dehnung der Unterwand zur Folge, wobei reflektorisch eine vermehrte Oxytocin-Sekretion im Hypothalamus ausgelöst und eine langsam ansteigende Uterusaktivität hervorgerufen wird. Schließlich werden die Kontraktionen so intensiv, daß es zur Dehnung der Cervix kommt, welche einen weiteren und noch stärkeren Reiz für die reflektorische Oxytocin-Ausschüttung darstellt (C a l d e y r o - B a r c i a ¹⁰).

Nach diesen Bemerkungen über den neuesten Stand der Oxytocin-Forschung sei nun die Serum-Oxytocinase beschrieben.

Bei seinen Versuchen am isolierten Rattenuterus, das Oxytocin im Serum nachzuweisen, versetzte F e k e t e ¹⁴ 1932 Schwangerenserum der letzten Monate mit Hypophysenhinterlappen-extrakt und stellte fest, daß nach 15stündiger Inkubation dieses Gemisch seine oxytocische Wirkung verloren hatte.

Erst im Jahre 1942, also zehn Jahre später, stellten W e r l e und E f f k e m a n n ⁴⁶ auf Grund genauerer Untersuchungen fest, daß kurze Zeit nach Beginn einer Gravidität im Blut der schwangeren Frau ein System auftritt, welches das Oxytocin abbaut. Die oben genannten Autoren versetzten Schwangerenserum mit Ansätzen von Orasthin, einem industriellen Hypophysenhinterlappen-Extrakt, und inkubierten 30 Minuten. Es zeigte sich dann, daß zum Beispiel im 5. Monat der Gravidität das hinzugegebene Oxytocin, dessen Menge bekannt war, bis zu 60 % abgebaut oder besser gesagt inaktiviert war; unter der Geburt war das im Versuch hinzugegebene Oxytocin vollständig abgebaut worden.

Vorkommen und Bildungsstätte der Serum-Oxytocinase (SOT)

Nach den Untersuchungen von W e r l e, W e r l e und S e m m ⁴⁷⁻⁴⁹, W e r l e und S e m m, E n z e n b a c h ⁴⁵, S e m m ³⁰⁻³⁴ u. a. wissen wir heute, daß die SOT ein rein spezifisches Schwangerschaftsferment darstellt und nur bei der schwangeren Menschenfrau und beim trächtigen Rhesusaffen im

Serum während der Schwangerschaft anzutreffen ist. Bei anderen Säugetieren, wie Rinder, Ratten, Hunde, Schweine, Kaninchen und Meerschweinchen fand man im Serum keine SOT. Nach S e m m stellt die SOT ein Spezifikum der Primaten I. Ordnung dar, welche eine Placenta hämochorialis olliformis besitzen, die nur Säuger mit aufrechtem Gang aufweisen.

Von H o f f und B a y e r ²⁰ wurde die Anwesenheit der SOT während der Schwangerschaft als ein Schutzmechanismus erklärt. Bei einem plötzlichen Stress in Form einer Ausschüttung von Oxytocin aus dem Hypophysen-Hinterlappen soll die SOT das vermehrt ausgeschüttete Oxytocin abbauen und somit den vorherigen Zustand wiederherstellen. Mit der Dauer der Schwangerschaft nimmt die SOT an Aktivität zu, um zum Zeitpunkt der Geburt ihren Höchstwert zu erreichen. Da der SOT-Spiegel 8 bis 10 Tage post partum fast gleich Null ist, war der Gedanke naheliegend, daß die Bildungsstätte der SOT in der Placenta zu suchen ist. S e m m konnte durch Untersuchungen an pathologischen Placenten (Blasenmolen) die Bildung der schwangerschaftsspezifischen SOT im synzytialen Trophoblasten der Placenta experimentell sehr wahrscheinlich machen.

Über die Bildungsstätte konnte neuerdings auch S e m m mit Hilfe einer histochemischen Methode präzisere Aussagen machen. Darüber soll weiter unten, bei der Beschreibung der chemischen Bestimmungsmethode genauer eingegangen werden.

Chemische Eigenschaften der SOT.

W e r l e, H e v e l k e und B u t h m a n n ⁴⁴ teilen in ihren Untersuchungen mit, daß es sich bei dem in der Schwangerschaft vorkommenden Prinzip um ein hochmolekulares, thermolabiles Ferment handle, mit einem ausgeprägten Wirkungsoptimum zwischen pH 6,5 und 7,5. Mit steigender Reaktionstemperatur nimmt die Aktivität des Fermentes zu. Cystein und Gluthation aktivieren die SOT stark. Kochen zerstört das Ferment in kürzester Zeit. Unter sterilen Bedingungen und bei 10° Celsius ist es unverändert monatelang haltbar. Folgende chemische Substanzen vermögen die SOT nicht zu hemmen: Blausäure, Mangan,

Na-Pyrophosphat, Quecksilberchlorid, Semicarbacid, Schwefelwasserstoff, Cobalt und Magnesium.

Werle und Seem⁴⁷ untersuchten die SOT weiterhin elektrophoretisch. Mit einer von Seem konstruierten Apparatur für die Vertikalelektrophorese wurde die SOT stets auf der kathodischen Seite des Albuminstroms, angelehnt an die α_1 -Fraktion der Globuline, gefunden. Weiterhin gelang es Seem, mit Dinatriumhydrogen-Äthylendiamintetraacetat, einem Chelatbildner, die SOT elektiv zu hemmen. Durch Zugabe von Cobalt-, Mangan- und Zink-Ionen konnte das Enzym reaktiviert werden.

Eigene Untersuchungen über die Messung der Serum-Oxytocinase-Aktivität am isolierten Rattenuterus.

A. Biologische Methode.

Sie ist keine direkte Fermentbestimmung, sondern es wird eine bekannte Menge Oxytocin mit Schwangerenserum inkubiert und nach der Inkubation der noch vorhandene Oxytocinanteil mit einer Standardlösung verglichen.

Die hier angegebene Methode wurde von Seem wesentlich verfeinert und dadurch in ihrer Meßgenauigkeit mit $\pm 5\%$ angegeben.

Zwei isolierte Rattenuterushörner (max. 2,5 cm lang) werden getrennt in zwei mit 12,5 ml luftdurchperlter Tyrodelösung bei 37° Celsius suspendiert. Von einer Standardlösung, die pro ml 0,02 intern. Einh. Oxytocin enthält, werden 0,5 ml als Standardmenge verabreicht. Diese 0,01 intern. Einh. sind für 95 % des verwendeten Tiermaterials die Dosis, die zu rhythmischen Kontraktionen von etwa 2/3 der jeweiligen Maximalkontraktion führt. Bei zu hohen Dosen gehen die rhythmischen Kontraktionen in Dauerkontraktionen über. Nach Verabreichung der Oxytocin-Lösung wird das Bad nach 2 Minuten rhythmischer Kontraktionen mehrmals erneuert. Nach 3 Minuten Erschlaffungs- bzw. Erholungszeit erfolgt die neue Oxytocin-Gabe. Die während der Erschlaffungszeit auftretenden Spontankontraktionen stören die Messung

nicht und verschwinden nach 1 bis 2 Stunden meist völlig.

Für die Auswertung des Kurvenbildes darf nun nicht die Gesamthöhe der Kontraktionen, wie dies bisher erfolgte, in Betracht gezogen werden. Für die Messung ist die Höhe der über der Ruhelinie liegenden unteren Kontraktionszacken der Größe der jeweiligen Oxytocin-Dosis direkt proportional. Bleiben diese Zacken manchmal nicht in gleicher Höhe, so ist der Abfall bei gleichen Oxytocingaben derselbe, und die Kurvenbilder sind kongruent. Als Tiermaterial wurden unvorbehandelte, weiße weibliche Ratten verwendet. Ihr Gewicht betrug im Durchschnitt 120 g. Nach den Erfahrungen, die S e m m bei seinen Untersuchungen mit dem isolierten Rattenuterus machte, wissen wir heute, daß der vaginale Anteil der Uterushörner wesentlich weniger spontane Kontraktionen aufweist, als das Ganzpräparat oder der ovarnahe Anteil. Bei den in dieser Art durchgeführten Versuchen wurde deshalb immer ein 1,5 bis 2 cm langes Stück Uterushorn, von der portio vaginalis aus gemessen, suspendiert. Als Suspensionsflüssigkeit erwies sich die Tyrode-Lösung am besten, da die Uterushörner in ihr eine Überlebensdauer bei Luftdurchperlung und bei laufender Meßtätigkeit von 8 bis 12 Stunden zeigten. Die Meßmethode zeigt weiterhin den Vorteil, daß der Rattenuterus auf Histamingabe praktisch kaum eine Einbuße der Kontraktionshöhe erleidet. Durch Histamin verunreinigter Hypophysen-Hinterlappen-Extrakt stört die Messung nicht, wenn die Zugabe kleiner als 1 bis 2 γ pro Oxytocingabe ist.

Gewinnung des Testorgans.

Eine ungefähr 120 g schwere, weiße, nicht trächtige, weibliche Ratte wurde nach der Entnahme aus dem Tierstall durch kurzen kräftigen Genickschlag getötet. Nach Durchtrennung der arteria carotis auf einer Seite blutete das Tier aus. Aus der darauf eröffneten Bauchhöhle wurden durch zwei Scherenschläge die Uterushörner gewonnen und sofort in einer bereitstehenden Tyrode-Lösung von 37° Celsius von anhängendem Fettgewebe freipräpariert, auf die erforderliche Länge reseziert (1,5 bis 2 cm) und anschließend sogleich in die Suspendiergefäße gebracht,

die eine Tyrode-Lösung von ebenfalls 37° Celsius enthielten.

Die Apparatur zur Testung an überlebenden Uteri und Därmen.

Es wurde eine von W e r l e angegebene und von S e m m weitgehend modifizierte und verbesserte Apparatur verwendet. Die Auswertapparatur besteht aus einem elektrisch geheizten, großen Thermostaten, der die beiden mit atmosphärischer Luft durchperlten Suspensionsgefäße und die Spülflüssigkeit (Tyrode-Lösung) in einem Wasserbad ständig auf $37^{\circ} \pm 0,05^{\circ}$ Celsius erwärmt. Die beiden Suspensionsgefäße (12,5 ml) sind nebeneinander angebracht und können getrennt durchspült werden. Die über den beiden Suspensionsgefäßen installierte Schreibhebelvorrichtung erlaubt eine gleichzeitige Aufzeichnung von zwei Kurven übereinander auf einer beruhten Trommel. Die Laufgeschwindigkeit der Trommel betrug 0,5 cm pro Minute. Nur wenn beide Kurvenbilder übereinstimmten, wurden die Messungen verwendet. Die Unsicherheit der biologischen Bestimmung konnte somit weitgehend herabgemindert werden.

Die Auswertzeit für eine Messung schwankt zwischen 15 bis 100 Minuten. Lange Auswertezeiten benötigt die Messung des Serums von ganz jungen Schwangerschaften. Die SOT-Bestimmung einer Gravidität jenseits mens VI ist mit Hilfe dieser Apparatur innerhalb von 15 Minuten möglich.

Herstellung der Standardlösung, der Ansätze und Gewinnung des Schwangerenserums.

Zunächst wurde eine Oxytocinlösung (Lösung A) hergestellt. Verwendet wurde ein synthetisches Oxytocin (Syntocinon von der Fa. Sandoz, Nürnberg und Oxytocin "Horm", ein wässriger Extrakt des uteruswirksamen Hormons des Hypophysenhinterlappens, dessen blutdruckwirksame und antidiuretische Komponente abgetrennt ist).

Lösung A:

Eine Ampulle Syntocinon forte = 10 internationale Einheiten (IE). Davon 1 ml entnehmen, dazu 9 ml aqua destillata = 10 ml Lösung, wovon 1 ml = 1 IE ist.

Standard-Lösung:

1 ml Lösung A, dazu wiederum 9 ml aqua dest. = 10 ml. Aus dieser verdünnten Lösung 2 ml entnehmen und mit 8 ml Tyrodelösung nochmals verdünnen = 10 ml. Somit sind nun in der letzten verdünnten Lösung in 0,5 ml 0,01 IE enthalten, also die Oxytocinmenge, welche bei 95 % des verwendeten Tiermaterials rhythmische Kontraktionen auslöst.

Serum-Ansatz-Lösung:

1 ml Lösung A, dazu 1,0 ml nicht hämolytisches Serum. Die beiden Teile des Serumansatzes, Oxytocinlösung und Serum, wurden nun gemessene Zeit im Thermostaten bei einer konstanten Temperatur von 37° Celsius zusammengebracht (inkubiert).

Inkubationsdauer:

Das Alter der einzelnen zur Untersuchung genommenen Schwangerschaften wurde immer vom ersten Tag der letzten normalen Monatsblutung aus berechnet.

Seren des 7. Schwangerschaftsmonats bis zum Ende der Gravidität wurden 60 Minuten inkubiert, solche vom 4. bis 7. Monat 120 Minuten, alle anderen Seren, die von einer Schwangerschaft von mens I bis IV stammten, wurden 4 Stunden im Thermostaten inkubiert. Nach Beendigung der Inkubation wurden die Ansätze sofort in Eiswasser (minus 2° Celsius) gebracht und dort gekühlt, um weitere Fermentaktivität zu verhindern. Darin verblieben sie bis zur Auswertung am Rattenuterus.

Gewinnung des Schwangerenserums:

5 ml natives Venenblut wurden aus der gestauten Armvene unter sterilen Cautelen entnommen und in sterilen Zentrifugengläschen aufgefangen. Nach 10-minütigem Stehenlassen wurde sorgfältig zentrifugiert (10 Minuten) und von dem überstehenden Serum 1 ml mit einer sterilen Pipette entnommen. Es wurde dabei peinlichst darauf geachtet, daß keine Erythrozyten in das Serum gelangten, um keine Fehlergebnisse durch die Erythrozyten-Oxytocinase zu bekommen.

Fast alle untersuchten Schwangerenserum stammten aus der Schwangerenberatung der II. Frauenklinik der Universität. Eine Auswahl bestimmter pathologischer Graviditäten, wie Mehrlinge, Hydramnion, Myom in graviditate usw. wurde nicht getroffen, sondern die Seren wurden in ihrem Oxytocinasegehalt bestimmt, wie sie anfielen. +)

Von den 50 untersuchten Seren wurden etwa 30 am Tage der Entnahme, die übrigen am Tage darauf untersucht. Das abzentrifugierte Serum wurde in der Zwischenzeit im Kühlschrank bei minus 2° Celsius aufbewahrt.

Berechnung der Fermentaktivität.

Die Bestimmung der in den Abbausätzen übrig bleibenden Oxytocinwirkung am isolierten Rattenuterus wurde weiter oben beschrieben.

Nach S e m m ³¹ wird die jeweilige Oxytocinase-Aktivität in der Weise ausgedrückt, daß angegeben wird, wieviel intern. Einh. des vorgelegten Oxytocins jeweils abgebaut wurden.

Beispiel einer Berechnung:

1 ml aktive Lösung (Serum) + 1 IE Oxytocin in 1,0 ml werden 60 Minuten bei 37° C inkubiert.

Die spritzengerechte Verdünnung wird durch Zugabe von 3 ml Tyrodelösung erreicht. Bei der anschließenden Auswertung am isolierten Organ ergibt sich, daß zum Beispiel 0,5 ml dieser Reaktionslösung (insgesamt jetzt 5 ml) der Standard-Oxytocingabe von 0,01 IE äquivalent sind. Da nun 0,05 ml Ansatzlösung 0,01 IE Oxytocin enthalten, sind in 5 ml 0,1 IE enthalten. Es wurden also von der bekannten vorgegebenen Oxytocinmenge des Ansatzes (1,0 IE) 0,9 IE abgebaut, was einem Prozentsatz von 90 entspricht.

+) Für die freundliche Entnahme des Schwangerenserums möchte ich an dieser Stelle den Kolleginnen und Kollegen in der Schwangerenberatung meinen Dank aussprechen.

Die Technik der Oxytocinauswertung am isolierten Rattenuterus ist oben beschrieben. Die Bestimmung der noch verbleibenden Oxytocinmenge wurde bei den 50 untersuchten Fällen folgendermaßen vorgenommen:

In die Suspensionsflüssigkeit (12 ml Tyrodebad) des Uterus wurden zweimal 0,5 ml Standard-Lösung, zweimal 0,05 ml Serumansatz, dann wieder zweimal 0,5 ml Standard-Lösung gegeben. Die Kontraktionszeit der Uterushörner betrug 2 Minuten, danach ließ man sie 3 Minuten erschlaffen, wobei in jeder Minute der Erschlaffungszeit das Tyrodebad erneuert wurde. Entsprach die Höhe der Fußpunkte der Kontraktionen nach Injektion der Serumansatzlösung derjenigen, welche durch die Standardlösung verursacht wurde, so ist kein Oxytocin abgebaut worden. Waren die Kontraktionen kleiner, so wurde Oxytocin abgebaut, das heißt, die Serumprobe ist schwangerschaftspositiv. Durch Spritzen größerer Mengen des Serumansatzes sucht man diejenige Menge des Ansatzes auf, die eine Kontraktionshöhe verursacht, welche mit der Kontraktionshöhe der Standard-Lösung möglichst genau übereinstimmt. Im folgenden sind die 50 auf den Gehalt an Serumoxytocinase untersuchten Fälle einzeln nacheinander aufgeführt, daneben das Alter der Gravidität zum Zeitpunkt der Untersuchung und die Inkubationsdauer (Minuten). Der Oxytocinabbau ist in Prozent angegeben. Der erste Tag der letzten normalen Regelblutung ist zur Berechnung des Schwangerschaftsalters herangezogen worden.

Alter der Gravidität	Inkubationsdauer	Abbau des Oxytocins in %
1. Grav. mens VI	120 Min.	90
2. " " V-VI	120 "	92,34
3. " " VII-IX	60 "	90
4. Abort. immin. mens IV	240 "	84,62
5. " " " III	240 "	75
6. Grav. mens II-III	240 "	54,55
7. " " V	120 "	66,7
8. Abort. immin. mens V-VI	120 "	95,8

Alter der Gravidität	Inkubations- dauer	Abbau des Oxy- tocins in %
9. Grav. mens IX	60 Min.	90
10. " " IX	60 "	90
11. Abort. immin. mens II-III	240 "	50
12. Grav. mens IV-V	120 "	75
13. " " VI	120 "	90
14. " " VI-VII	120 "	95
15. " " VII-VIII	60 "	87,5
16. Abort. immin. mens II-III	240 "	75
17. Grav. mens VIII	60 "	75
18. " " VI	120 "	66
19. " " VI-VII	120 "	83
20. " " VI	120 "	80
21. " " VII-VIII	60 "	87,5
22. " " VI	120 "	80
23. " " IX-X	60 "	95
24. " " VII-VIII	60 "	75
25. " " V	120 "	72
26. " " IX-X	60 "	83,8
27. " " VIII	60 "	87,5
28. " " VIII-IX	60 "	93,8
29. " " VIII-IX	60 "	93,8
30. " " VII-VIII	60 "	90,6
31. " " V	120 "	66
32. " " IV-V	120 "	50
33. " " V	120 "	50
34. " " V	120 "	87,5
35. " " VI	120 "	90
36. " " VIII-IX	60 "	93
37. " " VI-VII	120 "	87,5
38. " " VIII-IX	60 "	90
39. " " VI	120 "	75
40. " " IX	60 "	90

Alter der Gravidität	Inkubations- dauer	Abbau des Oxy- tocins in %
41. Grav. mens X	60 Min.	90
42. " " VIII	60 "	87
43. " " VIII	60 "	87
44. " " VIII	60 "	87
45. " " VI	120 "	50
46. " " VI	120 "	50
47. " V-VI	120 "	50
48. " " IX-X	60 "	93,8
49. " " V-VI	120 "	50
50. " " IV	120 "	45

Außerdem kam noch ein Fall von einem histologisch gesicherten Chorionepitheliom zur Untersuchung, welche vor der Operation des Tumors vorgenommen wurde. Uteruswand und linkes Ovar zeigten große Herde des gewucherten Chorionepithels. Die Auswertung der Serumansatzlösung verlief negativ in Bezug auf Oxytocinase.

Abbildung 1



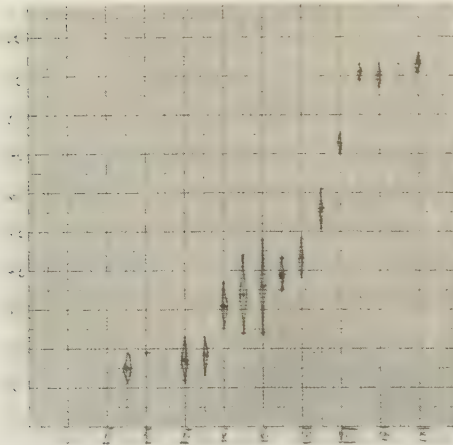
Abszisse: Monate der Schwangerschaft

Ordinate: Abbau des Oxytocins in Prozent,
Inkubationszeit 60 Minuten

Abbildung 2

Abszisse: Monate der Schwangerschaft

Ordinate: Mittelwerte des Oxytocinase-Abbaues in den einzelnen Monaten der Gravidität, angegeben in Prozent, sowie deren Streuung (standard deviation),
Inkubationszeit jeweils 60 Minuten.



Die Errechnung des arithmetischen Mittelwertes wurde durch die Formel

$$m = \frac{x_i + y_i}{N} \quad \text{durchgeföhrt.}$$

Die Streuung (standard deviation) wurde mit Hilfe der Formel

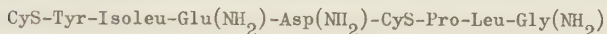
$$G = \sqrt{\frac{y_1 (x_1 - m)^2 + y_2 (x_2 - m)^2}{N - 1}} \quad \text{errechnet,}$$

wobei x_1, x_2 , us. die Variation, y_1, y_2 usw. die Häufigkeit einer Größe darstellen.

B. Die chemische Methode.

Vor einigen Jahren inkubierten T u p p y, N e s v a d b a und Mitarbeiter³⁸ Oxytocin mit Schwangerenserum solange, bis es seine hormonelle Wirkung vollständig verloren hatte. Die in

Lösung verbliebenen Produkte zeigten eine beträchtliche Menge freier Cystein-Säure und ein Polypeptid, das alle Aminosäuren des oxydierten Oxytocins enthielt. Die Entstehung der freien Cystein-Säure ($\text{CY SO}_3\text{H}$) kann so gedeutet werden, daß durch das inaktivierende Prinzip jene Peptidbindung im Oxytocinmolekül angegriffen wird, welche dessen aminoendständigen Halbcystinrest (CY S) mit dem ihm benachbarten Tyrosinrest verknüpft. Durch die Perameisensäure wird dann das primäre Spaltprodukt



in CySO_3H und $\text{Tyr-Isoleu-Glu}(\text{NH}_2)\text{-CySO}_3\text{H-Pro-Leu-Gly}(\text{NH}_2)$ verwandelt.

T u p p y und N e s v a d b a schreiben in ihrer ersten Arbeit dann weiter: "Wenn die Annahme zutrifft, daß die Oxytocinase den aminoendständigen Aminosäurerest abspaltet, besitzt sie die Wirkungsweise einer Aminopeptidase; man sollte demnach erwarten, daß der enzymchemisch ermittelte Aminopeptidasespiegel im Serum von Schwangeren gegenüber jenem in Normalseren stark erhöht ist."

Die obenangeführten Forscher kamen weiterhin zu dem Ergebnis, daß einige chromogene Aminopeptidasesubstrate, besonders die β -Naphthylamide von Aminosäuren, durch Schwangerenserum schneller gespalten werden, als durch Serum nicht schwangerer Frauen. Während der Gravidität fanden sie besonders den Spiegel eines Fermentes stark erhöht, welches L-Cystin-di- β -naphthylamid hydrolysiert. T u p p y und N e s v a d b a untersuchten die Oxytocin-Inaktivierung durch die SOT auf rein chemischem Weg. Sie kamen zu dem Ergebnis, daß die S-S-Brücke des Cystins im Oxytocinring mit Perameisensäuren oxydativ gesprengt werden kann. Hatte nun aber auf diesen Oxytocinring vor der Oxydation der S-S-Brücke Schwangerenserum eingewirkt, dann erschien reichlich freie Cysteinsäure im Substratgemisch. Die SOT muß demnach ihrerseits den Oxytocinring zwischen dem Cystin und Tyrosin spalten, also die C=O-N-H-C-Verbindung, die sogenannte Peptidbindung, lösen. Aus diesen Erkenntnissen heraus wurde von

T u p p y das L-Cystin-di- β -naphthylamid als Modells substrat für die chemische Bestimmung der Oxytocinase-Aktivität synthetisiert. Das Ferment spaltet hier das Cystin vom Naphthylaminrest ab, der sich in einer Farbreaktion quantitativ erfassen läßt. Je mehr Cystin also abgespalten wird, desto intensiver ist die Farbreaktion. G r e e n et al. beobachteten, daß Schwangerenserum gegenüber L-Leucin- β -naphthylamid als Substrat eine durchschnittlich 1,8 mal höhere enzymatische Aktivität zeigen als andere Seren. Allgemein fest steht aber nun die Beobachtung, daß die Amino peptidase-Aktivität des Serums in der Gravidität in signifikanter Weise erhöht ist, aber bei weitem nicht so sehr, wie der aufgrund der biologischen Methode bestimmte Oxytocinasespiegel.

Verschiedene Enzymsubstrate zeigen eine verschieden starke Vermehrung der Aktivität. Diese Beobachtung deutet darauf hin, daß im Schwangerenserum nicht nur eines, sondern zwei oder mehrere Enzyme mit unterschiedlicher Substratspezifität vorkommen. Man konnte infolgedessen auch an die Möglichkeit denken, daß im Serum während der Schwangerschaft eine Amino peptidase vermehrt vorkommt, welche in spezifischer Weise Substrate von der Art des Oxytocins angreift.

T u p p y fand das p_H -Optimum der Enzymreaktion bei 7,2 - 7,7; mit steigendem p_H -Wert sinkt die Spaltungsgeschwindigkeit des L-Cystin-di- β -naphthylamids von Schwangerenserum langsamer ab als diejenige durch Nichtschwangerenserum.

Die Hydrolysegeschwindigkeit nimmt bei längerandauernder Inkubation etwas ab. Die Substratkonzentration hat auf die enzymatische Reaktion keinen Einfluß, sofern sie 250 mg/ml übersteigt.

Methode der chemischen Bestimmung des Oxytocinasespiegels
nach T u p p y.

Substrat-Lösung

1. 135 mg L-Cystin-di- β -naphthylamid in 50 ml 0,012 n HCl unter mäßigem Erwärmen lösen. Die klare Lösung mit 50 ml aqua dest. verdünnen.
(0,012 n HCl = 1,2 ml 36 % HCl ad 1.000 ml aqua dest.)

Puffer-Lösung (p_H : 7,9)

2. 68,9 ml einer 0,1 n Veronalnatriumlösung (1,42 Veronalnatrium in CO_2 -freiem aqua dest. gelöst) werden mit 31,1 ml 0,1 n HCl und 50 ml aqua dest. vermischt.
(0,1 n HCl = 10 ml 36 % HCl ad 1.000 ml aqua dest.)

Weitere Reagenzien.

3. Trichloressigsäure 10 % (Gewichtsprozent)
4. 0,36 n HCl (36 ml 36 % HCl p.a. ad 1.000 ml a. d.)
5. Natriumnitrit-Lösung: 1 %
6. Ammoniumsulfamat-Lösung: 2 %
7. N-(1-Naphthyl)-äthylendiamin-di-hydrochlorid: 0,1 % wässrige Lösung.
8. Aceton p. a.

Diese obenangeführten Lösungen wurden selbst hergestellt und in dunkelfarbigen Flaschen aufbewahrt.

Bestimmung:

0,30 ml Serum werden mit 0,45 ml Wasser und 1,50 ml Veronalpuffer verdünnt. Von dem verdünnten Serum werden in 2 kleine Zentrifugenröhrchen je 0,75 ml pipettiert und mit je 0,25 ml Substratlösung versetzt. In eines der beiden Röhrchen, welches zur Bestimmung des colorimetrischen Kontrollwertes dient, wird unmittelbar nach der Substratzugabe zur Verhinderung der Enzymreaktion 1,00 ml Trichloressigsäure pipettiert (gut mischen). Das andere Röhrchen wird 4 Stunden lang bei 37° C inkubiert, bevor die Zugabe von 1,00 ml Trichloressigsäure zur Beendigung der Enzymreaktion erfolgt. Von nun an wird der Inhalt der beiden Röhrchen wieder auf gleiche Weise behandelt. Das durch die

Trichloressigsäure ausgefällte Eiweiß wird abzentrifugiert. Von der klaren überstehenden Lösung wird 1,00 ml in einem 50 ml Erlenmeyer-Kolben pipettiert und in diesem mit 9 ml einer Mischung von 2 Volumen-Anteilen 0,36 n HCl und 1 Volumenanteil Aceton versetzt. Die folgenden Zugaben müssen unter Ausschluß von Tageslicht (am besten in einer Dunkelkammer bei Rotlicht) erfolgen. Nach jedem Zusatz muß durch Umschwenken der Kolben gut geschüttelt werden: 1,00 ml Natriumnitrit, 5 Min. später 1,00 ml Ammoniumsulfamat und wieder 10 Min. später 1,00 ml N-(1-Naphthyl)-äthylendiamin. Nun stellt man die Erlenmeyerkolben in einen Brutschrank bei 37° C und läßt (im Dunkeln!) die Entwicklung des aus dem β -Naphthylamin gebildeten blauvioletten Farbstoffes vor sich gehen.

Die maximale Färbung ist nach 3 - 4 Stunden erreicht und bleibt dann viele Stunden konstant.

Die Ablesung wird mit einem Spektrophotometer in Cuvetten mit einer Schichtdicke von 1 cm bei einer Wellenlänge von 565 millimü vorgenommen. Der im Kontrollversuch aufgetretene, sehr geringe Extinktionswert (lediglich bei Anwesenheit von Sulfonamiden im Serum ist dieser erhöht) wird vom Extinktionswert des eigentlichen Versuches abgezogen.

Die so entwickelte Extinktionsdifferenz ist der Menge des aus dem Substrat durch die enzymatische Reaktion freigesetzten β -Naphthylamins proportional.

In Anlehnung an Green, Tso, Bressler und Seligmann wurde als Maß der Amino-peptidase-Aktivität die Zahl der Milligramme β -Naphthylamin, die von 100 ml Serum in einer Stunde aus dem Substrat abgespalten werden, gewählt; man erhält diese Zahl durch Multiplikation der Extinktionsdifferenz mit dem Faktor von 18,4. Die Fehlergrenze dieser Methode liegt für die niedrigen Meßbereiche bei 5 % und sinkt mit zunehmenden Meßwerten ab, so daß sie im Meßbereich der Hochschwangerschaft etwa 1 % ausmacht.

Die Untersuchung des Schwangerenserums auf Amino-peptidase-Aktivität wurde meistens am gleichen Tage gleichzeitig mit der

Oxytocinasebestimmung am isolierten Rattenuterus durchgeführt. Die anderen Seren, welche nicht am gleichen Tage untersucht wurden, sind in der Zwischenzeit im Kühlschrank bei -2°C aufbewahrt worden. Die später untersuchten Seren sind aber nie länger als 48 Stunden, von der Blutabnahme bis zur Verarbeitung, aufgehoben worden.

Aufzählung der 50 auf Aminopeptidase-Aktivität untersuchten Fälle.

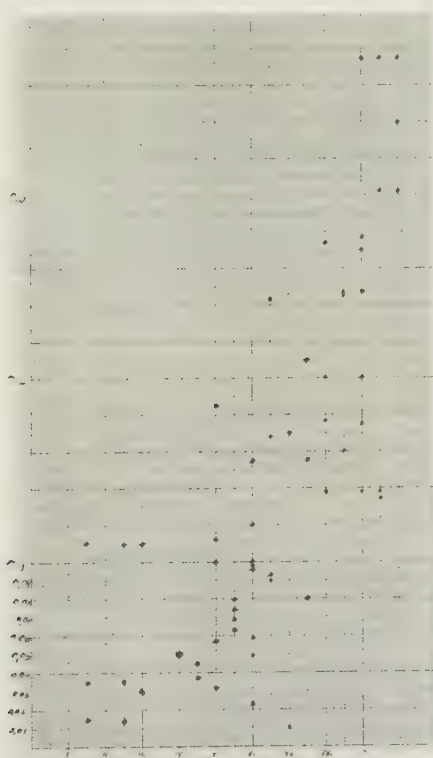
Alter der Schwangerschaft	Inkubationszeit in Stunden	Extinktionsdiffe- renz aus Meß- u. Leerwert
1. Grav. mens V-VI	4 Std.	0,069
2. " " VI	"	0,155
3. " " VIII-IX	"	0,245
4. Ab. im. mens IV	"	0,059
5. " " " III	"	0,030
6. Grav. mens II-III	"	0,110
7. " " V	"	0,185
8. Ab. im. mens V-VI	"	0,080
9. Grav. mens IX	"	0,270
10. " " IX	"	0,200
11. Ab. im. mens II-III	"	0,035
12. Grav. mens IV-V	"	0,045
13. " " VI	"	0,023
14. " " VI-VII	"	0,090
15. " " VII-VIII	"	0,025
16. Ab. im. mens II-III	"	0,015
17. Grav. mens VIII	"	0,015
18. " " VI	"	0,010
19. " " VI-VII	"	0,168
20. " " VI	"	0,049
21. " " VII-VIII	"	0,205
22. " " VI	"	0,059
23. " " IX-X	"	0,138
24. " " VII-VIII	"	0,156

Alter der Schwangerschaft	Inkubationszeit in Stunden	Extinktionsdiffe- renz aus Meß- u. Leerwert
25. Grav. mens V	4 Std.	0,100
26. " " IX-X	"	0,135
27. " " VIII	"	0,138
28. " " VIII-IX	"	0,160
29. " " VIII-IX	"	0,375
30. " " VII-VIII	"	0,072
31. " " V	"	0,032
32. " " IV-V	"	0,038
33. " " V	"	0,112
34. " " V	"	0,057
35. " " VI	"	0,097
36. " " VIII-IX	"	0,247
37. " " VI-VII	"	0,243
38. " " VIII-IX	"	0,277
39. " " VI	"	0,093
40. " " IX	"	0,175
41. " " X	"	0,190
42. " " VIII	"	0,274
43. " " VIII	"	0,202
44. " " VIII	"	0,177
45. " " VI	"	0,100
46. " " VI	"	0,120
47. " " V-IV	"	0,075
48. " " IX-X	"	0,302
49. " " V-VI	"	0,063
50. " " IV	"	0,070

Der auf biologische Methode untersuchte Fall von Chorionepitheliom wurde ebenfalls mit der chemischen Methode untersucht. Während der Oxytocinasespiegel am isolierten Rattenuterus nur einmal bestimmt wurde, wurde der Amino-peptidasespiegel im Abstand von 5 Wochen zweimal bestimmt.

Am 16. 7. 1960 ergaben sich 0,3588 mg β -Naphthylamin als das Maß der Amino-peptidase-Aktivität, am 10. 8. 1960 betrug die Amino-peptidase-Aktivität 0,221 mg β -Naphthylamin. Auf der untenstehenden Abbildung 3 sind alle 50 untersuchten Fälle so aufgezeichnet, daß auf der Abszisse die einzelnen Schwangerschaftsmonate, auf der Ordinate die dazugehörigen Extinktionsdifferenzen aus dem Meßwert und Leerwert dargestellt sind.

Abbildung 3.



Von einigen Untersuchern der SOT wurde in der letzten Zeit die Frage aufgeworfen, ob nicht ein Aktivitätsverlust infolge zu langer Lagerung des Serums vor der Bestimmung am isolierten Rattenuterus auftrete.

B e l l e r u n d G ö b e l s m a n n ⁵ fordern sogar eine Standardisierung der Zeit, die zwischen Blutabnahme und Anfertigen der Ansätze, also bis zum Inkubationsbeginn liege.

Zur Klärung dieser Frage wurden folgende Versuche durchgeführt:

1. Die Seren von zwei gesunden, normalen Schwangeren im 6. Monat wurden in der üblichen Weise gewonnen.
2. Von jeder Patientin wurden jeweils 10 ml nichthämolytisches Serum in 5 gleiche Portionen geteilt.

Davon wurden

- a) 2 ml 2 Stunden lang im Thermostaten bei 37° C erwärmt
- b) 2 ml 2 Stunden lang im Kühlschrank bei + 2° C aufbewahrt
- c) 2 ml 4 Stunden lang im Thermostaten bei 37° C erwärmt
- d) 2 ml 6 Stunden lang im Thermostaten bei 37° C erwärmt
- e) 2 ml 8 Stunden lang im Tiefkühlfach bei -16° C aufbewahrt.

Sofort nach Beendigung der einzelnen obenangegebenen Zeiten wurde jedes Serum in Eiswasser abgekühlt (Seren b, c, d). Von allen 5 Portionen (a - e) wurden, wie üblich, Ansätze hergestellt und der Oxytocinaseabbau mit der biologischen Methode bestimmt.

Den gleichen Vorbedingungen waren die Seren derselben Patientinnen unterworfen, die mit der chemischen Methode zur gleichen Zeit auf die Aminopeptidase-Aktivität untersucht wurden.

Ergebnisse:

Biologische Methode: Die Serumportionen beider Schwangeren erlitten alle einen 50 %igen Abbau, obwohl sie verschieden lange Zeit erwärmt oder abgekühlt worden waren.

Chemische Methode: Die Bestimmung mit Hilfe der chemischen Methode ergab Extinktionsdifferenzen (Meßwert minus Leerwert), die zwischen 0,15 und 2,0 lagen.

Abbildung 4

Abszisse: Monat der Schwangerschaft

Ordinate: Arithmetischer Mittelwert der Extinktionsdifferenzen der einzelnen Schwangerschaftsmonate, ausgedrückt in mg β -Naphthylamin, die von 100 ml Serum in einer Stunde aus dem Substrat abgespalten werden.



Abbildung 5

Abszisse: Monat der Schwangerschaft

Ordinate: Mittelwerte der Extinktionsdifferenzen und deren Streuungen (standard deviation)

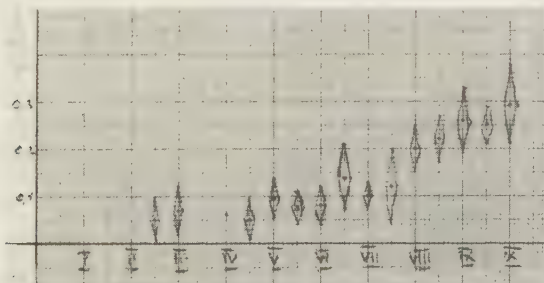
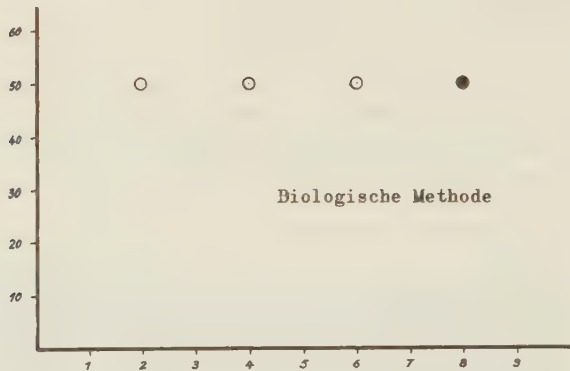


Abbildung 6

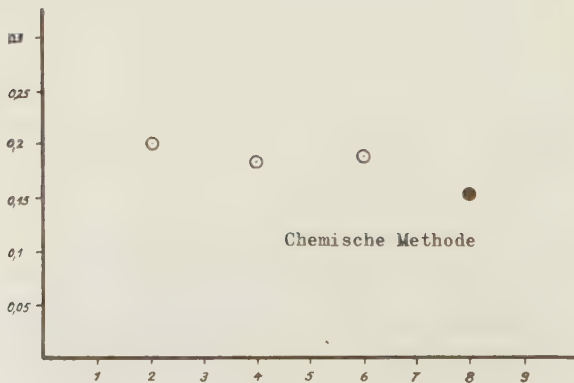


Abszisse: Aufbewahrungszeit vor dem Ansatz

Ordinate: Oxytocinabbau in %

Aufbewahrung bei 37° C ○

Aufbewahrung bei - 16° C ●



Abszisse: Aufbewahrungszeit vor dem Ansatz

Ordinate: Extinktionsdifferenz

Z u s a m m e n f a s s u n g.

In vorliegender Arbeit werden die bisher bekanntesten biochemischen und physiologischen Eigenschaften der Serum-Oxytocinase beschrieben. Anschließend werden die beiden Bestimmungsmethoden - die biologische und die chemische - anhand von 50 Schwangerschaften vergleichend gegenübergestellt. Hierbei fand sich:

1. Die Abbaukurven des bei der biologischen Methode vorgelegten Oxytocins und des bei der chemischen Methode als Substrat verwendeten l-Cystin-di- β -Naphthylamids haben in Bezug auf die Dauer der Schwangerschaft einen ungefähr gleichen Verlauf.
2. Die Streuwerte bei der chemischen Bestimmungsmethode sind größer als bei der biologischen Methode.
3. Vergleichsweise wurden Seren vor der chemischen und biologischen Aktivitätsbestimmung bis zu 8 Stunden bei 37⁰ C vorinkubiert. Es zeigte sich hierbei, daß bei beiden Methoden die Aktivität des Serums durch diese Vorinkubation nicht signifikant abnimmt, wie von anderer Seite behauptet wurde.

LITERATURVERZEICHNIS

1. ABDERHALDEN, E.: Die Abwehrfermente, 7. Auflage, Dresden 1944
2. ABDERHALDEN, E.: Münchn. Med. Wschr. 1912, Nr. 24, 36, 40
3. ATKINSON u. ENGLE: Endokrinologie, 40 (1947), 327
4. BARGMANN, W.: Triangel, 3 (1958), 207
5. BELLER, F. K. u. U. GÖBELSMANN: Arch. Gynäk. 193 (1959), 347
6. BELLER, F. K., U. GÖBELSMANN: Acta endocrinol. 31 (1959), 467
7. BODANSKY u. Mitarbeiter: Amer. J. Clin. Path. 9 (1937), 36
8. BOISSONNAS, R. A., St. GUTTMANN, P.-A. JAQUENOUD et J.-P. WALLER: Helvetia Chemica Acta XXXVIII, 1941 (1955)
9. BURN, J. H.: Biol. Auswertemethoden, Springer-Verlag, Berlin 1937
10. CALDEYRO-BARCIA, R., ALVAREZ, H., POSEIRO, J. J., HENDRICKS, C. H., SICA-BLANCO, Y., POSE, S. V., CIBILS, L. A., CARBALLO, M. A., GONZALEZ-PANIZZA, V., FIELITZ, C., MENDEZ-BAUER, C., de TELIAS, E.A.: Relato oficial presentado al 2º Congreso Uruguayo de Ginecotocologia Montevideo 1957
11. DICKER, S. E., G. A. WHYLEY: J. Obstetr. Gynaec. Brit. Emp. 66 (1959), 605
12. DYKE, van, H. D., ADAMSONS, K. Jr., ENGEL, S. L.: The storage and liberation of neurohypophysial hormones. In "The Neurohypophysis", p. 65, London, Butterworth 1957
13. FABIANO, A.: Attualità Obstetr. e Ginecol. 2 (1956), 1261
14. FEKETE, K.: Endokrinologie 7 (1930), 364
15. FERGUSON, J. K. W.: Surg. Gynec. Obstetr. 73 (1941), 359
16. FITZPATRICK, R. J.: Sympos. on oxytocin, Pergamon Press, London 1959
17. GOMORI: Arch. of Path. 32 (1941), 189, Microscopie Histochemistry Principles and Practice, Chicago 1952
18. HILD, W., ZETLER, G.: Arch. exper. Path. Pharmacol. 213 (1951), 139
19. HILTON, J. G., R. F. JOHNSON: Amer. J. Obstetr. Gynec. 78 (1959), 479
20. HOFF, R. u. R. BAYER: Zschr. f. Geburtshilfe u. Gynäk. 144 (1956), Beilageheft: 148 (1957), 233
21. HOLLENBACH, Ch.: Zbl. f. Gynäk. 45 (1958), 1760
22. HOLTON, P.: Brit. J. Pharmacol. 2 (1948), 189 u. 3 (1948), 328
23. IRMSCHER, A.: Arch. Gynäk. 193 (1959), 284
24. JUNG, W. u. G. STARK: Zbl. Gynäk. 78 (1956), 1201
25. MÜLLER-HARTBURG, W., H. NESVADBA u. H. TUPPY: Arch. Gynäk. 191 (1959), 442
26. OBER, K. G.: Fortschritte d. Diagn. u. Therap. 1 (1950), 8
27. PAGE, E. W.: Amer. J. Obstetr. Gynec. 52 (1946), 1014
28. PASETTO u. ERMIGLIA: Minerva ginecol. 8 (1956), 133, Z. 60, 153
29. RIEBACH, E.: "Enzymologie der Geburtshilfe", G. Fischer-Verlag, Jena 1960
30. SEAM, K.: Arch. exper. Path. u. Pharmacol. 220 (1953), 477

31. SEMM, K.: "Der Oxytocin-Oxytocinase-Haushalt unter besonderer Berücksichtigung des Wehenproblems", Habilitationsschrift, 1958
32. SEMM, K.: Das Wehenproblem (Stuttgart 1960)
33. SEMM, K.: Klin. Wschr. 1955, 817
34. SEMM, K.: Arch. Gynäk. 191 (1958), 57
35. STOKLASKA, E., E. WINTERSBERGER: Arch. exp. Path. Pharmac. 236 (1959), 358
36. THOMSEN, K.: Arch. Gynäk. 187 (1955), 264
37. TUPPY, H.: Biochim. biophysica acta 11 (1953), 449
38. TUPPY, H., H. NESVADDA: Mh. Chem. 88 (1957), 977
39. VALVERDE-PINEDO: Acta gynec. et obstetr. Hisp.-Luit. 4 (1955), 293
40. VIGNEAUD, Du, V., H. C. LAWLER and E. A. POPENOE: J. Amer. Chem. Soc. 75 (1953), 4880
41. VIGNEAUD, Du, V., C. RESSLER, J. M. SWAN, C. W. ROBERTS, P. G. KATSOYANNIS and S. GORDON: J. Amer. Chem. Soc.: 75 (1953), 4879
42. VIGNEAUD, Du, V., C. RESSLER and S. TRIPPETT: J. of Biol. Chem. 205, 949(1953)
43. WAIDL, E. u. K. SEMM: Arch. Gynäk. 192 (1960), 269
44. WERLE, E., A. HEVELKE u. K. BUTHMANN: Biochem. Z. 309 (1941), 270
45. WERLE, E., K. SEMM, R. ENZENBACH: Arch. Gynäk. 177 (1950), 211
46. WERLE, E., G. EFFKEMANN: Arch. Gynäk. 171 (1941), 286
47. WERLE, E., K. SEMM: Arch. Gynäk. 187 (1956), 449
48. WERLE, E., K. SEMM: Klin. Wschr. 29 (1951), 544
49. WERLE, E., K. SEMM: Arch. Gynäk. 187 (1955), 106
50. WILLSTÄTTER zit. nach LEHNARTZ, Lehrbuch d. chem. Physiologie, Springer-Verlag, Berlin

Lebenslauf.

Am 4. Juni 1935 wurde ich als erster Sohn des Facharztes für Gynäkologie und Geburtshilfe, Dr. med. Karl Jäger und seiner Ehefrau Helene, geborene Hirsch, in Ludwigshafen am Rhein geboren. Von 1941 an besuchte ich die Volksschulen in Ludwigshafen am Rhein, Neustadt an der Weinstraße und Bad Dürkheim. Im Jahre 1946 trat ich in das Alt- und Neusprachliche Gymnasium zu Ludwigshafen am Rhein über. Nach Abschluß der Oberschule durch das Abitur im Jahre 1954 begann ich im Frühjahr 1954 das medizinische Studium an der Ludwig-Maximilian-Universität München, wo ich 1959 das Staatsexamen nach 11 Semestern mit der Gesamtnote "gut" ablegte.

Von Januar bis Dezember 1960 war ich als Medizinalassistent an der II. Universitätsfrauenklinik der Medizinischen Fakultät in München tätig und fertigte dort unter Anleitung von Herrn Privat-Dozent Dr. K. Semm die Doktorarbeit an.

Am 1. 2. 1961 setzte ich die Medizinalassistententätigkeit an der Medizinischen Klinik des Städtischen Krankenhauses Ludwigshafen am Rhein, Leiter Herr Professor Dr. med. Max Hochrein, fort, wo ich weiterhin tätig bin.

